



# 核酸提取或纯化试剂 说明书

## 【产品名称】

核酸提取或纯化试剂

## 【包装规格】

24次/盒，96次/盒

## 【预期用途】

用于核酸提取、富集、纯化步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。

## 【检验原理】

本试剂盒提供了一种从粪便上清液样本中提取DNA，包括样本中的人源细胞和或革兰氏阴性菌DNA的方法。独特的缓冲体系使裂解液中的核酸高效特异地结合在磁珠上，漂洗后，高纯度的DNA被洗脱于洗脱缓冲液或去离子水中。纯化得到的DNA纯度好，得率高，不含蛋白、核酸酶和其他杂质，可用于PCR、荧光定量PCR等下游实验。

## 【主要组成成分】

试剂名称	24次/盒		96次/盒	
	规格	数量	规格	数量
裂解缓冲液	750 $\mu$ L/支	1支	3 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液1	13 mL/瓶	1瓶	52 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液2 (浓缩液)	6 mL/瓶	1瓶	23 mL/瓶	1瓶
漂洗缓冲液3 (浓缩液)	8 mL/瓶	1瓶	32 mL/瓶	1瓶
洗脱缓冲液	1.8 mL/支	1支	8 mL/瓶	1瓶
蛋白酶K	550 $\mu$ L/支	1支	1.25 mL/支	2支
核糖核酸酶A	120 $\mu$ L/支	1支	500 $\mu$ L/支	1支
磁珠悬浮液	550 $\mu$ L/支	1支	1 mL/支	2支

## 【储存条件及有效期】

4-30  $^{\circ}$ C保存，有效期为12个月。

可在4-37  $^{\circ}$ C运输，运输时间建议不超过7天。

## 【样本要求】

1. 适用样本类型：粪便样本。
2. 样本处理与保存：常温处理，保存液保存。
3. 样本运输：常温运输。

## 【自备仪器、试剂】

1. 手动单管提取：
  - 1) 恒温混匀仪——货号：CW2593
  - 2) 2/15 mL磁力架——货号：CW2594
  - 3) 异丙醇，无水乙醇
2. 与康为CWE2100或CWE3200或CWE960全自动核酸提取仪的匹配：
  - 1) 康为CWE2100或CWE3200或CWE960全自动核酸提取仪
  - 2) 异丙醇，无水乙醇

## 【检验方法】

### 一：手动单管处理

1. 充分摇晃混匀粪便样本采集管。将粪便样本采集保存管以4500 rpm离心2分钟以沉淀粪便颗粒。

注意：该试剂盒仅可与具有裂解功能的粪便样本采集保存管搭配使用，且并未提供粪便样本采集保存管。如需要，请订购粪便样本采集保存管（货号：CWY041L）。

2. 向2 mL离心管中依次加入25  $\mu$ L 裂解缓冲液、300  $\mu$ L 离心后的样本上清液、20  $\mu$ L 蛋白酶K和4 $\mu$ L核糖核酸酶A溶液。将离心管置于恒温混匀仪上，60 $^{\circ}$ C，1200 rpm，孵育15分钟。

注意：①请按照顺序依次加入试剂。

②如无恒温混匀仪，将离心管涡旋震荡10秒钟后放于60 $^{\circ}$ C水浴锅中孵育15分钟，期间每隔5分钟涡旋震荡10秒钟。

③若粪便样本较为粘稠或者采样量过多，建议加入100  $\mu$ L上清液与200  $\mu$ L粪便样本保存液。

④吸取上清液时，避免吸到固体颗粒。

3. 向裂解物中加入200  $\mu$ L异丙醇与20  $\mu$ L 磁珠悬浮液，使用恒温混匀仪室温涡旋8分钟。

注意：磁珠使用前需涡旋震荡30秒，可根据样本量将异丙醇与磁珠预混然后加入。

4. 将离心管放于磁力架上静置1分钟，待磁珠完全吸附于离心管侧壁后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。

5. 将离心管从磁力架上取下，加入500  $\mu$ L漂洗缓冲液1后涡旋5秒钟，然后放于室温1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀1.5分钟（震荡过程中确保磁珠处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置1分钟，待磁珠完全吸附于离心管侧壁后轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。

6. 将离心管从磁力架上取下，加入500  $\mu$ L漂洗缓冲液2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋振荡5秒钟后放于室温1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀30秒（震荡过程中确保磁珠处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置1分钟，待磁珠完全吸附于离心管侧壁后轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。

7. 将离心管从磁力架上取下，加入500  $\mu$ L漂洗缓冲液3（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋振荡5秒钟后放于室温1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀30秒（震荡过程中确保磁珠处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置1分钟，待磁珠完全吸附于离心管侧壁后轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。

8. 重复步骤7。
9. 保持离心管固定于磁力架上，用移液器进一步去除离心管管底和管盖上的溶液，之后室温放置5分钟左右，使乙醇挥发干净（肉眼观察磁珠表面变成哑光且磁珠无干裂）。
10. 将离心管从磁力架上取下，加入70  $\mu\text{L}$  洗脱缓冲液。涡旋震荡使磁珠完全悬浮于洗脱液中后将其放于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱8分钟。
11. 将离心管放于磁力架上静置1分钟，等待磁珠完全吸附于离心管侧壁后用移液器将洗脱液转移至新的离心管中-20 $\pm$ 5  $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

## 二：与康为CWE2100或CWE3200全自动核酸提取仪的匹配

1. 充分摇晃混匀粪便样本采集管。将粪便样本采集保存管以4500 rpm离心2分钟以沉淀粪便颗粒。

**注意：该试剂盒仅可与具有裂解功能的粪便样本采集保存管搭配使用，且并未提供粪便样本采集保存管。如需要，请订购粪便样本采集保存管（货号：CWY041L）。**

2. 按照下表在96DW深孔板中加入试剂：

位置	试剂
1&7 列	裂解缓冲液: 25 $\mu\text{L}$ 样本: 300 $\mu\text{L}$ 蛋白酶K: 20 $\mu\text{L}$ 核糖核酸酶A: 4 $\mu\text{L}$
2&8 列	漂洗缓冲液1: 500 $\mu\text{L}$
3&9 列	漂洗缓冲液2: 500 $\mu\text{L}$
4&10 列	漂洗缓冲液3: 500 $\mu\text{L}$ 磁珠悬浮液: 20 $\mu\text{L}$
5&11 列	漂洗缓冲液3: 500 $\mu\text{L}$
6&12 列	洗脱缓冲液: 70 $\mu\text{L}$

**注意：**

- ①1&7 列中试剂按照顺序依次加入。
- ②漂洗缓冲液2、3使用前请检查是否已加入无水乙醇。
- ③漂洗缓冲液3与磁珠悬浮液可按照上述体积根据样本数量预混，使用前涡旋10 秒混匀。
3. 将加入样本的深孔板放入仪器中，之后磁棒套固定在磁棒套架上。然后运行提取程序。
4. 约15分钟后程序暂停，将深孔板从仪器中取出，向1、7列加入200  $\mu\text{L}$  异丙醇。
5. 将深孔板放回仪器中，继续运行程序。待程序运行结束后，取出磁套和深孔板。
6. 将深孔板6、12列中的洗脱产物转移至1.5 mL离心管中-20 $\pm$ 5 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

### 三：与康为CWE960全自动核酸提取仪的匹配

- 充分摇晃混匀粪便样本采集管。将粪便样本采集保存管以4500 rpm离心2分钟以沉淀粪便颗粒。

注意：该试剂盒仅可与具有裂解功能的粪便样本采集保存管搭配使用，且并未提供粪便样本采集保存管。如需要，请订购粪便样本采集保存管（货号：CWY041L）。

- 按照下表在96DW深孔板中加入试剂：

位置	试剂
板1	裂解缓冲液: 25 $\mu$ L 样本: 300 $\mu$ L 蛋白酶K: 20 $\mu$ L 核糖核酸酶A: 4 $\mu$ L
板2	漂洗缓冲液1: 500 $\mu$ L
板3	漂洗缓冲液2: 500 $\mu$ L
板4	漂洗缓冲液3: 500 $\mu$ L 磁珠悬浮液: 20 $\mu$ L
板5	漂洗缓冲液3: 500 $\mu$ L
板6	洗脱缓冲液: 70 $\mu$ L

注意：

①板1中试剂按照顺序依次加入。

②漂洗缓冲液2、3使用前请检查是否已加入无水乙醇。

③漂洗缓冲液3与磁珠悬浮液可按照上述体积根据样本数量预混，使用前涡旋10秒混匀。

- 将加入样本的深孔板放入仪器中，之后磁棒套置于板1中。然后运行提取程序。
- 约15分钟后程序暂停，取出板1，向样本板每孔中加入200  $\mu$ L异丙醇。
- 将深孔板放回仪器中，继续运行程序。待程序运行结束后，取出磁套和深孔板。
- 程序运行结束后，将洗脱板中的产物转移至1.5 mL离心管中-20 $\pm$ 5  $^{\circ}$ C保存。

#### 【注意事项】

- 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量下降。
- 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明预先在漂洗缓冲液2（浓缩液）和漂洗缓冲液3（浓缩液）中加入无水乙醇。
- 磁珠悬浮液严禁冰冻、高速离心。冰冻、高速离心可能会对磁珠造成不可逆的损害。
- 实验过程注意穿戴口罩，手套及实验服，实验中产生的废液应收集，按照医疗企业废液标准处理。